

Fig. 1

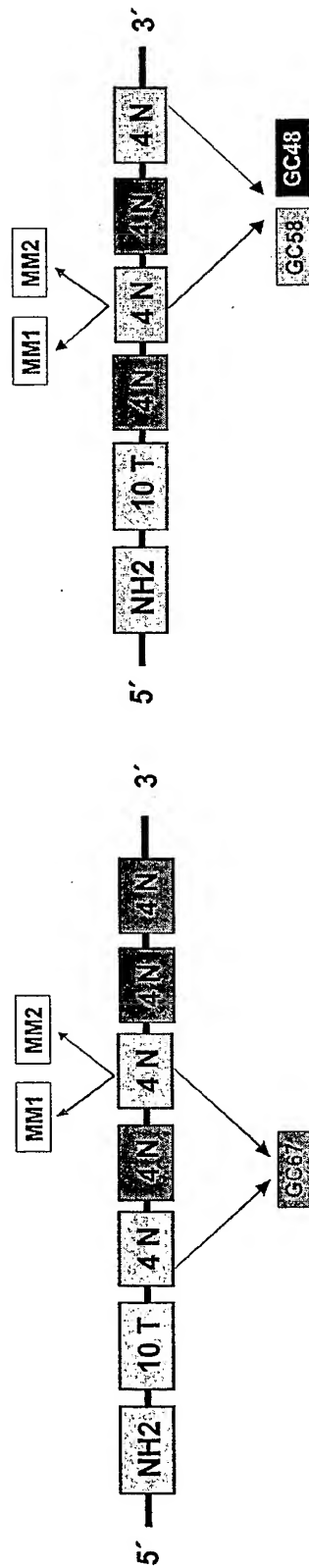


Fig. 2A

Fig. 2B

Name	Oligonukleotid-Aufbau	Oligonukleotid-Sequenz (5' → 3')	Molmasse	GC %	T _m (°C) 50mM Na ⁺
GC67	5'-(NH ₂ -C6)-10T-20nt-3'	TTTTTTTTTT CGCG CTGA GGGG AGAG CTAG	6248,1	70	67
GC58	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT TCTC GGGG TCAG GCGC	4914,2	75	58
GC48	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT GAGA TAGC CTCT AGCT	4881,2	50	48
GC67-MM1	5'-(NH ₂ -C6)-10T-20nt-3'	TTTTTTTTTT CGCG CTGA GGGG AGAG CTAG'	6208,1	70	
GC58-MM1	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT TCTC GGGG TCAG GCGC	4874,2	75	
GC48-MM1	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT GAGA TAGC CTCT AGCT	4841,1	50	
GC67-MM2	5'-(NH ₂ -C6)-10T-20nt-3'	TTTTTTTTTT CGCG CTGA GGGG AGAG CTAG	6168,0	70	
GC58-MM2	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT TCTC GGGG TCAG GCGC	4834,2	75	
GC48-MM2	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT GAGA TTCC CTCT AGCT	4832,2	50	
GC37	5'-(NH ₂ -C6)-10T-16nt-3'	TTTTTTTTTT GATC TTTT CTAG AGCT	4862,2	38	43

* Angaben beziehen sich auf die Nukleotid-Sequenz ohne 10T-Spacer und Amino-Link

Fig. 3

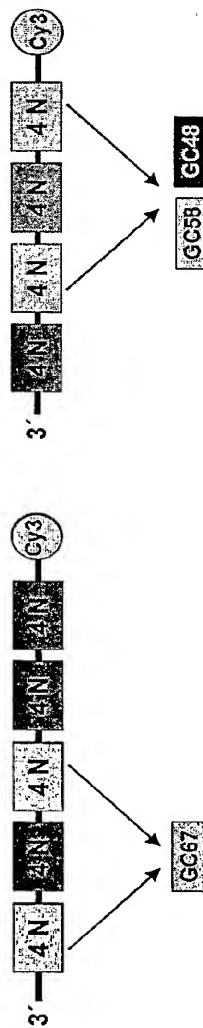


Fig. 4A

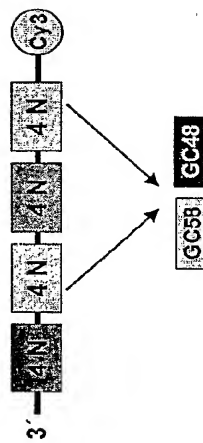


Fig. 4B

Name	Aufbau	Sequenz (5' → 3')	Molmasse	GC %	T _m (°C) 30mM Na ⁺	Thermodynam. Konstanten (1M Na ⁺ , 25°C, pH7,0)
						ΔG (kcal/mol) ΔH (kcal/mol) ΔS (cal/K·mol)
GC67-Hyb3	5'-Cy3-20nt-3'	CTAG CTCT CGCC TCAG CGCG	5989,9	70	67	29,9 168,6 430,7
GC58-Hyb3	5'-Cy3-16nt-3'	CGCG CTGA CCCC GAGA	4852,2	75	58	24,3 145,4 374,2
GC49-Hyb3	5'-Cy3-16nt-3	AGCT AGAG GCTA TCTC	4881,2	50	48	17,9 116,7 302,1

Fig. 5

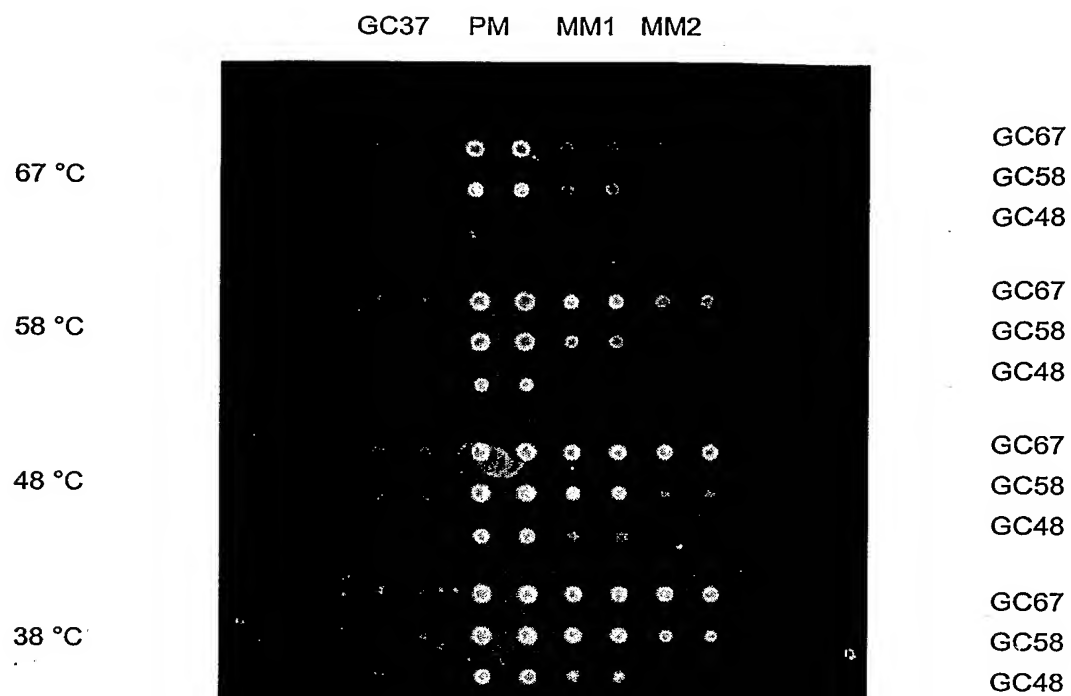


Fig. 6

38° C

Sonde	Mittelwert Cy3	Stabw	% +/-	PM/MM
GC67	28049,75	2197,12	7,83	
GC67MM1	21302,00	4849,96	22,77	1,32
GC67MM2	21924,75	8729,10	39,81	1,28
GC58	37585,75	6166,83	16,41	
GC58MM1	28874,75	4769,91	16,52	1,30
GC58MM2	1036,75	423,02	40,80	36,25
GC48	17745,75	2668,69	15,04	
GC48MM1	214,50	23,64	11,02	82,73
GC48MM2	12,00	0,00	0,00	1478,81
GC37*	107,81	66,30	61,50	

* 0-Kontrolle

Fig. 7D

48° C

Sonde	Mittelwert Cy3	Stabw	% +/-	PM/MM
GC67	42137,25	5450,23	12,93	
GC67MM1	30812,50	14749,88	47,87	1,37
GC67MM2	22461,25	7815,19	34,79	1,88
GC58	48023,00	10010,84	20,85	
GC58MM1	11538,75	5829,19	50,52	4,16
GC58MM2	87,75	30,99	35,31	547,27
GC48	16626,25	2744,96	16,51	
GC48MM1	63,25	32,91	52,03	262,87
GC48MM2	8,25	1,50	18,18	2015,30
GC37*	57,93	27,98	48,31	

* 0-Kontrolle

Fig. 7C

58° C

Sonde	Mittelwert Cy3	Stabw	% +/-	PM/MM
GC67	43275,75	3211,55	7,42	
GC67MM1	6241,00	838,20	13,43	6,93
GC67MM2	268,25	24,42	9,10	161,33
GC58	47969,25	3584,93	7,47	
GC58MM1	285,75	56,49	19,77	167,87
GC58MM2	14,25	1,89	13,28	3366,26
GC48	840,50	116,56	13,87	
GC48MM1	8,75	2,63	30,06	96,06
GC48MM2	3,00	0,82	27,22	280,17
GC37*	60,56	33,32	55,01	

* 0-Kontrolle

Fig. 7B

67° C

Sonde	Mittelwert Cy3	Stabw	% +/-	PM/MM
GC67	28507,25	2527,93	8,87	
GC67MM1	279,75	114,55	40,95	101,90
GC67MM2	91,75	63,29	68,98	310,71
GC58	6189,00	613,22	9,91	
GC58MM1	314,25	139,47	44,38	19,69
GC58MM2	31,00	10,71	34,54	199,65
GC48	144,00	109,69	76,18	
GC48MM1	15,67	9,45	60,33	9,19
GC48MM2	3,00	1,15	38,49	48,00
GC37*	31,63	9,85	31,15	

• 0-Kontrolle

•

Fig. 7A

Bearbeitungsprotokoll

1. Hybridisieren:

Targets:	GC67-Hyb3, GC58-Hyb3, GC48-Hyb3
Targetkonzentration:	je 1 nM
Hybridisierungstemperatur:	67° C, 58° C, 48° C
Hybridisierungspuffer:	0,9 x Nexterion Hyb (Fa. Schott im Vertrieb von PeqLab)
Hybridisierungszeit:	60 min
Mischleistung ArrayBooster™:	26 dBm

2. Waschen

Waschung1:	10 min	2xSSC 0,2 % SDS 200 ml
Waschung2:	2 x 5 min	2xSSC 200 ml
Waschung3:	10 min	0,2xSSC 200 ml

anschließend sofort durch Abblasen und Abzentrifugieren trocknen.

3. Scannen

Um den größten dynamischen Bereich ausnutzen zu können sollten von den signalstärksten Spot aller Slides eines Experiments einige Pixel (max. 20 %/Spot) in der Sättigung des Detektors sein.

Fig. 8

1. Chip-Sonden:

Design aller Chip-Sonden ohne Negativ-Kontrolle:
Design des GC28:

5'-(Amino-C6)-(15T)-(16nt)-3'
5'-(Amino-C6)-(15T)-(12nt)-3'

Name	Sequenz (5' ⇌ 3')	* GC %	*Tm (50mM Na+)	*Molmasse
GC61	TTTTTTTTTTTTTTT GGACGCCCAGGCTGCC	81	61	4868.2
GC53	TTTTTTTTTTTTTTT GGTACCCCTGCTTGGC	63	53	4864.2
GC43	TTTTTTTTTTTTTTT TTACGATCTGATCCTT	38	43	4822.2
GC33	TTTTTTTTTTTTTTT ATATTTACTATAAGTT	13	33	4869.3
GC28	TTTTTTTTTTTTTTT TATACATTGATA	17	28	3643.5
GC61-MM1	TTTTTTTTTTTTTTT GGACGCCCAGGCTGCC	81	61	4908.2
GC53-MM1	TTTTTTTTTTTTTTT GGTACCCGTGCTTGGC	63	53	4904.2
GC43-MM1	TTTTTTTTTTTTTTT TTACGATGTGATCCTT	38	43	4862.2
GC33-MM1	TTTTTTTTTTTTTTT ATATTTACAATAAGTT	13	33	4878.3
GC61-MM2	TTTTTTTTTTTTTTT GGACGCCGTGGCTGCC	81	61	4899.2
GC53-MM2	TTTTTTTTTTTTTTT GGTACCCGAGCTTGGC	63	53	4913.2
GC43-MM2	TTTTTTTTTTTTTTT TTACGATGAGATCCTT	38	43	4871.2
GC33-MM2	TTTTTTTTTTTTTTT ATATTTAGAATAAGTT	13	33	4918.2

* Angaben beziehen sich auf Sequenz ohne 15T-Spacer.

2. Hybridisierungs-Targets:

Design aller Cy-labeled Hyb-Oligos: 5'-(Cy3)-(16nt)-3'

Name	Sequenz (5' ⇌ 3')	ΔG (kcal / mol)	ΔH (kcal / mol)	ΔS (cal / (°K mol))	Molmasse
GC61-Hyb3	GGCAGCCTGGGCGTCC	24.6	145.6	374.0	4899.2
GC53-Hyb3	GCCAAGCAGGGTAACC	20.7	135.6	354.4	4900.2
GC43-Hyb3	AAGGATCAGATCGTAA	17.2	122.5	323.3	4938.3
GC33-Hyb3	AACTTATAGTAAATAT	12.1	107.2	290.6	4887.3

Fig. 9